Lane Medical Library

AUS DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTSPOLIKLINIK BASEL
DIREKTOR: PROF. DR. EGGER

ÜBER DEN EINFLUSS EIWEISSFREIER ORGANEXTRAKTE AUF DEN TIERISCHEN ORGANISMUS

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT

VON

HUGO STUDER
AUS SOLOTHURN.

VERLAGSBUCHHANDLUNG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Professor Dr. Alfred Gigon.

(Sonderabdruck aus „Zeitschrift f. die ges. exper. Medizin", Bd. 45, H. 5/6.)

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Einleitung.

Seit der Einführung der Organtherapie durch *Brown-Sequard* in die Medizin und seitdem *Starling* den Begriff der Hormone geschaffen hat, hat dieses Gebiet nicht aufgehört, das Interesse der Forscher aufzuhalten. Schon *Brown-Sequard* hat die Theorie der inneren Sekretion aufgestellt, indem er erkannte, daß ein Organ auf andere Systeme des Organismus auf humoralem Wege mit Hilfe von chemischen Substanzen einwirken konnte. Die sog. Drüsen mit innerer Sekretion sind bisher fast der ausschließliche Gegenstand der Hormonforschung gewesen. Für einige dieser Drüsen war die Herstellung von Extrakten relativ leicht erreichbar, da dieselben auch wirksam waren, wenn sie in ungereinigtem Zustande per os dargereicht wurden; z. B. Schilddrüsensubstanz, Ovarialsubstanz, Hodensubstanz. Die Entdeckung des Adrenalins ließ einen zweiten Weg zur Weiterforschung dieser Organsubstanzen erkennen. Einen gewaltigen Erfolg erreichten *Banting* und *Best* mit der Entdeckung des Insulins. Ihr Haupterfolg beruhte darauf, daß es ihnen gelang, aus dem Pankreas ein vollständig eiweißfreies Präparat herzustellen, das, allem Anschein nach, nur die spezifisch aktiven Substanzen der inneren Sekretion des Pankreas enthält. In Anbetracht der komplizierten, zum Teil auch recht gefährlichen Wirkungen der Eiweißstoffe auf den Organismus ist die Methode der amerikanischen Autoren zur Gewinnung eiweißfreier Organextrakte außerordentlich wertvoll.

Obwohl die klassische Lehre immer noch eine beschränkte Anzahl Organe mit innerer Sekretion anerkennt, scheint die größere Zahl der neuen Autoren der Ansicht zu huldigen, daß noch andere Organe, beziehungsweise Gewebe des Organismus, die Vorgänge desselben durch eigene innere Sekrete zu beeinflussen vermögen. Schon *Spiro* und *Pick*[1]) haben die Vermutung ausgesprochen, daß gerinnungshemmende

[1]) *Spiro* u. *Pick:* Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 235. 1900.

Stoffe von gewissen Geweben dem Blute zugeführt werden können und in der Tat Muttersubstanzen derartiger Stoffe (Peptozymogene) im Pankreas und in der Schleimhaut des Magendarmtraktus nachgewiesen. *Roger*[1]) hat in den letzten Jahren sehr weitgehende gereinigte Leberextrakte hergestellt, die eine deutliche kardiale und vasculäre Wirkung entfalteten. *Haffner* und *Nagamachi*[2]) prüften wässerige mit Alkohol gefällte Extrakte aus Schilddrüse und Ovarien. Eine organspezifische Wirkung war nicht mit Sicherheit nachweisbar. Andere Autoren, z. B. *Popielski*, der die Wirkung von Extrakten aus dem Verdauungskanal untersuchte, verwendete Extrakte, die noch relativ eiweißreich waren. Der Eiweißgehalt scheint uns für gewisse Untersuchungen eine bedeutende Fehlerquelle zu sein, die eine spezifische Wirkung der Extrakte verdecken kann. Ferner sind die beobachteten Wirkungen, Erniedrigung des Blutdruckes, Leukopenie, veränderte Darmperistaltik keineswegs ohne weiteres als spezifisch anzusehen.

Es schien uns daher eine dankbare Aufgabe zu sein, die Wirkung einiger eiweißfreier Extrakte auf den lebenden Organismus zu prüfen.

Da die Methodik zeitraubend und kostspielig ist, beschränkten wir uns auf die Herstellung von Leber-, Lunge- und Darmpräparaten. Von der Leber, als wahrscheinlich wichtigstem Organ im intermediären Stoffwechsel, ist schon oft eine innere Sekretion vermutet worden[3]), ein sicherer Beweis für dieselbe liegt aber bis heute nicht vor; auch von der Darmwand hat man eine innere Sekretion angenommen. Was die Lunge anbelangt, so haben die Versuche von *Roger* wahrscheinlich gemacht, daß die Aufgabe der Lunge mit der Wechseltätigkeit durch Atmung noch nicht erledigt ist. *Roger* hat in sehr schönen Versuchen nachgewiesen, daß der Fettgehalt des Blutes der Vena pulmonalis gegenüber der Arteria pulmonalis ganz bedeutend vermindert war. Er spricht von einer Lipopexie des Lungengewebes. Zur Prüfung der Wirkung unserer Extrakte haben wir auf die Bestimmung von Blutdruck und Blutbild bei den Versuchstieren verzichtet, da Schwankungen in denselben mit den verschiedensten Substanzen erzeugt werden können, diese Größen somit kein geeignetes Objekt darstellen für die Beurteilung unserer Extrakte. Es erschien uns aussichtsreicher, nach Wirkungen auf den Stoffwechsel der Versuchstiere zu fahnden.

Wir möchten hier bemerken, daß man in der Literatur die Wirkung von Extrakten unseres Erachtens zu einseitig betrachtet. Die Autoren beschränken sich fast nur auf die unmittelbare Wirkung gewisser Stoffe. Es ist in der Tat auch die auffälligste und am leichtesten faßbare Wir-

[1]) *Roger:* Physiologie normale et pathologique du foie. Paris: Masson 1922

[2]) *Haffner* u. *Nagamachi:* Biochem. Zeitschr. **62**, 49. 1914.

[3]) *Cl. Bernard* hatte das Glykogen als das Produkt einer Sekretion der Leber angenommen.

kung. Damit ist aber nicht bewiesen, daß es für den Organismus die wichtigste darstellt. Wir möchten eine mittelbare entferntere Wirkung auch annehmen, die vielleicht den Verhältnissen im Organismus besser entsprechen dürfte. Die unmittelbare Wirkung des Schilddrüsen-Extraktes beruht in einer Beschleunigung der Herztätigkeit, in einer geringgradigen Veränderung des Gaswechsels, in der leichten Beeinflussung des Blutdruckes und des Blutbildes. Betrachte ich die entferntere Wirkung, so fällt hier die Blutdruckwirkung weg, auch das Blutbild kann vollkommen normal sein, die Wirkung auf die Herztätigkeit kann fehlen, man wird aber deutlich Veränderungen z. B. im Wachstum, im Wasserstoffwechsel und Fettstoffwechsel finden, Veränderungen, die mit einmaliger Darreichung niemals deutlich zum Ausdruck kämen. Aus diesen Überlegungen haben wir uns entschlossen, bei der Prüfung unserer Organextrakte unser Hauptaugenmerk auf fortlaufende Beobachtungen zu konzentrieren. Derartige Untersuchungen können selbstverständlich nur in beschränkter Zahl ausgeführt werden, da die Tiere wochenlang unter der Wirkung der Extrakte stehen müssen. Obwohl aus diesem letztern Grunde unsere Untersuchungen nicht sehr zahlreich sind, so haben sich doch bisher einige Resultate gezeitigt, die uns mitteilungswert erscheinen.

Methodik: Unsere Methodik ist diejenige, welche die amerikanischen Autoren zur Gewinnung des Insulins anwenden. Im Speziellen hielten wir uns an die *Collip*sche Darstellung des Insulins.

Möglichst frische Lunge, Leber oder Darm (oberster Teil des Dünndarmes) von Kühen oder Ochsen wird in einer Hackmaschine fein zerkleinert. Das gehackte Material wird gewogen und mit dem gleichen Vol. 95 proz. Alkohol versetzt. Der Brei wird gut umgerührt und für 3—4 Stunden in den Eisschrank gestellt. Darauf wird er durch ein Tuch gut durchgepreßt und die Flüssigkeit filtriert. Zum Filtrat gibt man wieder 2 Vol. 95 proz. Alkohol, um das Eiweiß zu fällen. Am besten gelang das immer, wenn das Filtrat neutral reagierte. Man bringt die Flüssigkeit über Nacht in den Eisschrank und filtriert dann von neuem. Das Filtrat auf Eiweiß untersucht, ergab in den meisten Fällen ein negatives Resultat. (Die in der folgenden Zusammenstellung der Präparate (Tab. 1) mit einem * bezeichneten Präparate wiesen ganz minimale Spuren Eiweiß auf. Mit diesen Präparaten

Tabelle 1. *Übersicht über die hergestellten Präparate.*

Ochsenlunge		Ochsenleber		Ochsendarm	
Methode I	Methode II	Methode I	Methode II	Methode I	Methode II
Die Präparate: 396*, 402, 403*, 408, 408a 425, 426.	397*, 409, 409a, 427, 428.	398, 406, 414*,415*, 421, 422, 440,	399, 407, 407a, 416, 423, 424, 431.	418, 419, 420.	404*, 404b, 411, 412, 430.

wurden nur einige Injektionen gemacht, und es zeigten sich bei den Versuchstieren keine Erscheinungen von Anaphylaxie oder ähnlichem, so daß dieser Fehler unsere Resultate kaum zu beeinflussen vermag.) Darauf wird das Filtrat in einen Kolben gebracht und im Vakuum eingeengt bis zu sirupöser Konsistenz. An-

fangs wurde das bei 30° C ausgeführt, bei späteren Präparaten bei 50—60° C ohne daß das aktive Prinzip zerstört wurde. Die eingeengte Flüssigkeit wurde dann mit Äther so lange ausgeschüttelt, bis sie völlig klar war und möglichst alle Lipoidsubstanzen gelöst waren. Der Äther wird weggegossen und der Rückstand in 2 Hälften geteilt.

Methode 1. Der erste Teil wird in einen Erlenmeyerkolben gebracht und mit absolutem Alkohol versetzt. Dabei fällt das Präparat in weißen Flocken aus. Nach einigen Stunden kann man den Alkohol leicht abgießen, weil das Präparat an den Wandungen des Kolbens klebt. Das Präparat wird gewogen und mit destilliertem Wasser zu einer 10—20 proz. Lösung gebracht. Der abgegossene absolute Alkohol wird mit reinem Äther versetzt, so lange bis weiße Flocken ausfallen. Der Niederschlag wird wieder gleich verarbeitet wie oben.

Methode 2. Der zweite Teil des Rückstandes wird im Vakuum völlig eingeengt zu einer dickflüssigen Masse, die mit 80% Alkohol aufgerührt und zentrifugiert wird. Die klare, alkoholische Lösung, die nachher über Salzen und etwaigem Eiweiß steht, wird abgehebert und in einen Erlenmeyerkolben gegeben. Dazu kommt gleich wie oben absoluter Alkohol, wobei das aktive Präparat in weißgelben Flocken ausfällt. Der abgeschüttete Alkohol wird wieder mit Äther versetzt und nochmals eine Fällung hervorgerufen. Diese Präparate werden wie die obigen mit destilliertem Wasser in 10—20 proz. Lösung gebracht.
Mit diesen Präparaten machten wir an einer Reihe von weißen Mäusen, Tauben und Kaninchen unsere Versuche.

I. Mäuseversuche.

Versuch 1. Am 8. XII. 1923 wurde einer weißen Maus 0,5 ccm Lungenpräparat (402) auf der linken Rückenseite subcutan injiziert. Nach 5 Minuten beginnt eine Lähmung am hintern linken Bein. 10 Minuten nach der Injektion legt sich das Tier auf die linke Seite. Atmung 92, Augen halb geschlossen, bewegungslos. Nach 15 Minuten Atmung 72. Nach zirka 20 Minuten kann die Maus wieder ordentlich laufen.

Versuch 2. Am 12. XII. 1923 erhielten 2 weiße Mäuse subcutane Injektionen von Darmpräparat (404b).

Maus A bekommt subcutan 0,2 ccm (404b) unter die Rückenhaut. Nach 5 Minuten liegt das Tier ruhig da, fast bewegungslos und beim Gehen schleppt es den Körper mühsam auf dem Boden nach. Nach 20 Minuten ist die Maus wieder munter und frißt vorgelegtes Futter. Nach weiteren 20 Minuten wird eine Injektion von 0,3 ccm (404b) wiederholt. Es zeigt sich in der Folgezeit nichts Abnormes.

Maus B bekommt ebenfalls 0,2 ccm (404b) unter die Rückenhaut. Sie verhält sich anfangs gleich wie Maus A. Nach 20 Minuten Wiederholung der gleichen Injektionsmenge. Kurz nachher bleibt das Tier regungslos sitzen, frißt nichts und bekommt von Zeit zu Zeit Zuckungen im ganzen Leibe. Die Maus erholt sich in kurzer Zeit wieder vollständig, geht aber in der folgenden Nacht zugrunde.

Versuch 3. Am 13. XII. 1923 wurden 2 weißen Mäusen subcutan Darmpräparat (404a) injiziert. Maus A erhält 0,5 ccm unter die Rückenhaut. 1 Stunde lang zeigt das Tier nichts Abnormes. Nach einer weiteren Stunde bekommt es heftige Krämpfe, wälzt sich auf dem Rücken, atmet angestrengt mit offenem Maule und geht nach wenigen Minuten zugrunde.

Eine größere Maus B bekommt dieselbe Dosis des gleichen Präparates. Sie zeigt anfangs etwas Müdigkeit, wird aber gleich wieder munter und zeigt in der Folge keine krankhaften Symptome.

Versuch 4. Eine Maus bekam 0,5 ccm Leberextrakt. Nach zirka 5 Minuten wird die Atmung beschleunigt, das Tier sitzt ruhig in einer Ecke des Käfigs, sieht krank aus. Nach 15 Minuten liegt es mit gestreckten Hinterbeinen da. Nach 55 Minuten erfolgt der Tod.

Bei 2 weiteren Mäusen war die Wirkung von 0,5 Leberextrakt gleich. In beiden Fällen beschleunigte Atmung, Tod nach zirka 50—60 Minuten.

Versuch 5. Eine Maus bekommt 0,7 ccm Lungenextrakt. Nach 45 Minuten wird das Tier tot im Käfig gefunden.

Eine zweite Maus bekommt nach 0,5 Lungenextrakt Krämpfe. Sie überwirft sich im Käfig ein ums andere Mal. Tod nach 2 Stunden.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigt, daß wir in unsern eiweißfreien Präparaten sehr wirksame Stoffe haben müssen. Ein Vergleich der Wirkung der verschiedenen Extrakte ist schwer zu machen, da wir aus dem gleichen Gewicht frischer Organe verschiedene Mengen Extrakt erhielten, und auch aus dem gleichen Organ bald mehr bald weniger Substanz gewonnen haben. Es lag uns bei den Mäuseversuchen hauptsächlich daran, zu prüfen, ob wir in unseren Präparaten wirksame Stoffe bekommen hatten.

Das Ergebnis derselben zeigt eindeutig, daß dies der Fall ist. Ziemlich sicher scheint aus den Mäuseversuchen hervorzugehen, daß Darmextrakt erst zirka 1 Stunde nach der Injektion einen deutlichen „klinisch" nachweisbaren Effekt zeigte, während z. B. nach Leberextrakt die Wirkung bedeutend rascher einsetzt, in der Regel wenige Minuten nach der Injektion.

Ferner möchten wir hervorheben, daß Injektionen von unseren Extrakten nicht das gleiche Bild ergeben wie z. B. Injektionen von Insulin. Im letzteren Falle sind die Krämpfe ausgesprochener, das Benehmen des Tieres ist verschieden von dem der unsrigen, die Augen mehr vorspringend, das Tier erscheint wie bewußtlos, was bei unseren Versuchen nicht der Fall zu sein scheint.

II. Taubenversuche.

Nachdem die oben erwähnten Versuche an Mäusen uns den Beweis geliefert haben, daß wir in unseren Präparaten eiweißfreie wirksame Substanzen hatten, haben wir einige Untersuchungen bei Tauben angestellt. Bekanntlich wirken gewisse Substanzen außerordentlich prompt auf die sog. Beri-Beri-Tauben. Wird eine Taube mit Reis und Salzen gefüttert, so treten nach relativ kurzer Zeit die bekannten Symptome der Beri-Beri auf. *Funk* und andere Autoren haben nachgewiesen, daß Leberextrakte die Lähmungserscheinungen innerhalb kurzer Zeit beseitigen können. Soweit aus der Literatur zu beurteilen ist, waren die Extrakte *Funks* nicht eiweißfrei.

Unsere Tauben waren in geräumigen Käfigen untergebracht, einzeln oder mehrere zusammen. Die Tauben, welche an Beri-Beri erkranken sollten, er-

hielten täglich frischen Reis, frisches Wasser. Der Reis wurde pro Tagesdosis mit 1 g folgender Salzmischung (nach *Mendel*) gemischt:

Calcium phosphoric.	100,0
Magnesium citricum	100,0
Kalium chloratum	15,0
Ferrum citricum	30,0
Jod	0,05
Jodkali	0,10

Taube 1. Am 15. XII. 1923 zeigt eine Taube alle Symptome der Beri-Beri-Erkrankung. Das Tier kauert am Boden, die Krallen krampfhaft zusammengezogen, die Flügel gelähmt, die Atmung ist angestrengt, mit dem Kopfe macht sie kreisförmige Verdrehungen, vorgelegtes Futter frißt sie nicht. Die Taube bekommt in die Brustmuskulatur eine Injektion von 0,5 ccm Leberextrakt (406).

Nach 10 Minuten hebt sich die Taube zeitweise auf die Füße, hält mit den kreisenden Bewegungen des Kopfes inne und blickt aufmerksam um sich. Nach weiteren 5 Minuten ist der alte Zustand wieder da; der Kopf liegt auf dem Boden aufgelegt, das Tier atmet oberflächlich; 5 Minuten später versucht sie sich wieder zu heben. Dieser abwechselnde Zustand von schwerem Krankheitszustande und Erholung dauert nun eine Zeitlang an. 40 Minuten nach der ersten Injektion bekommt sie nochmals 0,5 ccm des Präparates. 5 Stunden nach der ersten Einspritzung hat sich das Bild völlig geändert. Das vorher sehr kranke Tier mit struppigem Gefieder hüpft nun munter umher, alle Symptome des Beri-Beri sind zurückgegangen und es macht sogar kleinere Flugversuche. Am 16. XII. 1923 ist die Taube ganz munter und hüpft umher. Die Reisfütterung wird fortgesetzt. Injektion intramuskulär 0,5 ccm Leberpräparat (406).

17. XII. 1923. Gleicher Zustand wie gestern. Keine krankhaften Symptome. Injektion 0,5 ccm Leberpräparat (406).

18. XII. 1923. Taube ist munter. Injektion der gleichen Dosis.

22. XII. 1923. Taube gesund, frißt viel Reis. Injektion von 1,0 ccm Leberextrakt (406).

27. XII. 1923. Seit gestern zeigt die Taube wieder alle Symptome von Beri-Beri. Wir injizieren intramuskulär 1,0 ccm Leberpräparat (406). Nach 1 Stunde wieder vollkommen verändertes Bild. Die Taube läuft umher, setzt sich zeitweise nieder, frißt gierig vorgelegten Reis. 4 Stunden nach der Injektion ist die Taube vollkommen munter und gesund und fliegt einige Meter weit herum.

29. XII. 1923. Das Tier zeigt wieder leichte Symptome der Krankheit. Injektion von 1,0 ccm Leberextrakt (407a). Kurze Zeit nachher wieder bedeutende Besserung des Zustandes.

31. XII. 1923. Heute ist das Tier wieder vollkommen gelähmt. Wir injizieren 1,0 ccm und nach $1^1/_2$ Stunden nochmals 0,5 ccm Leberpräparat (407a). Es tritt aber keine Besserung mehr ein, der schwere Krankheitszustand dauert an und in der folgenden Nacht geht das Tier zugrunde.

Taube 2 erkrankt am 26. XII. 1923 mit leichten Symptomen des Beri-Beri. Am 27. XII. ist der Krankheitszustand vollkommen. Alle oben beschriebenen Symptome sind zu beobachten. Dem Tier wird intramuskulär 1,0 ccm Lungenpräparat (408) injiziert. Nach 1 Stunde zeigt sich gar keine Besserung. 4 Stunden nach der Injektion ist die Taube munter und fliegt umher.

1. I. 1924. Das Tier zeigt keine Beri-Beri-Symptome, frißt viel Reis, 1 ccm Lungenextrakt injiziert. In den folgenden Tagen bekommt die Taube keine Injektionen.

12. I. Das Tier erkrankt von neuem. Auf eine Injektion von 1,0 ccm Lungenpräparat (409) erholt sich das Tier rasch.

15. I. Die Taube kauert am Boden, geht nur mühsam, Flügel gelähmt, scheint sonst munter und frißt. 4 Stunden nach einer Injektion von 1,0 ccm Lungenpräparat (409) hüpft das Tier wieder herum. In den folgenden 3 Tagen treten wieder vermehrt Beri-Beri-Symptome auf. Die Taube leidet hauptsächlich an starken Diarrhöen und frißt nur wenig. Sie bekam jeden Tag eine Injektion von 1,0 ccm Lungenpräparat (409), erholte sich nach der Einspritzung jeweils bald wieder. Die Besserung dauerte jeweils nur kurze Zeit an und nach einem halben Tage traten die schweren Krankheitssymptome wieder auf. Am 20. I. geht das Tier trotz Injektion zugrunde.

Nr. 3. Eine Taube erkrankt am 3. I. 1924 mit Beri-Beri-Symptomen (Lähmung der Flügel, krampfhafte Verdrehungen des Kopfes, starke Diarrhöe).

Am 5. I. 1924 bekommt sie intramuskulär eine Injektion von 1,0 ccm Leberextrakt (414). Nach einem halben Tag erholt sich die Taube gut, hüpft umher und sucht nach Futter.

Am 8. I. ist die Taube munter, die Flügel sind aber gänzlich gelähmt. Injektion von 1,0 ccm Leberpräparat (414). Am 10. I. ist die Taube gesund. Wiederholung der Injektion. Dasselbe geschieht am 12. I.

15. I. Heute ist die Taube vollständig gelähmt. Sie liegt am Boden, atmet sehr schwach und langsam. Auf dreimalige Injektion von 1,0 ccm Leberpräparat (415) erholt sich das Tier nicht mehr und geht nach einem halben Tage zugrunde. Bei diesem Tier waren die Beri-Beri-Symptome äußerst heftig, hauptsächlich bestanden heftige Diarrhöen.

Nr. 4. Am 4. II. 1924 erkrankte eine Taube mit leichten Symptomen des Beri-Beri. Nach einer intramuskulären Injektion von 1,0 ccm Darmpräparat (420) zeigte das Tier in den folgenden Stunden gar keine Erholung.

5. II. Es besteht derselbe schwere Krankheitszustand. Keine sichtbare Besserung nach 1,0 ccm Darmpräparat (420). Am 7, und 8. II. besteht der gleiche Zustand fort, jeweils keine Besserung nach Einspritzung von 1,0 ccm Darmpräparat (420). Vom 9. auf den 10. II. geht das Tier an heftigen Beri-Beri-Symptomen zugrunde.

Nr. 5. Am 7. II. erkrankt das Tier an schweren Beri-Beri. Injektionen von 1,0 ccm Leberpräparat (424). Das Tier zeigt in der Folgezeit keine Besserung und geht in der Nacht auf den 8. II. plötzlich zugrunde. Die Injektion wurde wahrscheinlich zu spät gemacht, da die Symptome außerordentlich rasch zunahmen.

Nr. 6. Die Taube zeigt am 7. II. die Beri-Beri-Erkrankung. 3 Stunden nach einer Injektion von Lungenpräparat 1,0 ccm (427) erholt sie sich rasch wieder. Bis zum 13. II. wiederholen sich die krankhaften Zustände und jeweilige Besserung auf Einspritzungen immer wieder. Am 13. II. treten zu den bestehenden Symptomen starke Diarrhöen dazu. Das Tier ist matt und frißt wenig. Nach der Injektion des Präparates 427 tritt rasch wieder Besserung ein. Dasselbe zeigt sich am 15. und 16. II. jeweils 2—3 Stunden nach den Injektionen. Am 17. II. erliegt das Tier den starken Krankheitssymptomen.

Nr. 7. Eine Taube von 227 g Gewicht wird mit Reis und Salzgemisch gefüttert und erhält ferner jeden zweiten Tag 1 ccm Leberextrakt. Am 11. VI. treten die Krankheitssymptome auf. Am 16. VI. geht das Tier zugrunde. (Endgewicht 143 g.)

Nr. 8. Die Taube bekommt vom 6. VI. normales gemischtes Futter (Getreidekörner) und jeden zweiten Tag 1 ccm Leberextrakt. (Gewicht 188 g.) Am 11. VI. wiegt das Tier 200 g, 24. VI. 170 g, am 3. VIII. 135 g Tod.

Nr. 9. Eine Taube bekommt am 6. VI. nur Reiskost und Salzgemisch. (Gewicht 223 g.) Am 11. VI. beträgt das Gewicht 210 g, am 20. 175 g, und Tod.

Nr. 10. Die Taube mit 260 g Gewicht bekommt vom 27. VI. an nur Reiskost und Salzgemisch. Am 4. VIII. Exitus. Gewicht beträgt noch 145 g.

Nr. 11. Die Taube von 250 g bekommt vom 27. VI. Reis und 1 ccm Citronensaft und Salze. Am 27. VII. ist das Tier gelähmt. Am 29. VII. tot. Gewicht 160 g.

Nr. 12. Das Tier von 295 g Gewicht bekommt vom 27. VI. täglich Reis und 1 ccm Zitronensaft und Salzgemisch und $^1/_2$ ccm Leberextrakt. Am 4. VIII. ist das Tier noch scheinbar munter, wiegt 210 g, fliegt aber nicht mehr. Von heute an täglich 1 ccm Leberextrakt. Am 20. VIII. Tod. Gewicht 145 g.

Aus den zahlreichen Angaben der Literatur wie aus unseren eigenen Erfahrungen (wir haben noch 5 weitere hier nicht erwähnte Tauben mit Reis-Salzkost allein gefüttert) geht hervor, daß Tauben mit Reis und Salzen allein gefüttert nach ca. 3—4 Wochen erkranken und in der Regel 3—5 Tage nach Ausbruch der Beri-Beri-Symptome zugrunde gehen. Selten, bei uns in einem einzigen Fall (Nr. 9) treten die Symptome sehr früh auf und das Tier geht sehr rasch, bei Nr. 9 am ersten klinischen Krankheitstag, zugrunde.

Wird eine mit normaler gemischter Nahrung (Getreidekörner) gefütterte Taube mit Leberextrakt regelmäßig eingespritzt, so geht sie unter Abmagerung langsam nach 59 Tagen zugrunde. Wie für die Maus, so wirken unsere Extrakte, in etwas größeren Dosen injiziert, auch bei Tauben schädigend ein.

Taube 7, die ausschließlich Reissalzkost erhielt und mit Beginn dieser Fütterung ebenfalls regelmäßig Leberextrakt injiziert erhielt, erkrankte mit Lähmungserscheinungen schon 5 Tage nach Versuchsbeginn und starb am 10. Versuchstage.

Wertvollere und eindeutigere Resultate erhielten wir bei den anderen Versuchstieren. Die unmittelbare Wirkung des Leber- und Lungenextraktes bei Beri-Beri-Tauben war bei den ersten Injektionen stets sehr prompt. Die Beri-Beri-Symptome verschwanden innerhalb $^1/_2$—1 Stunde, manchmal etwas später, beinahe vollkommen. Das Leberextrakt wirkte fast stets bedeutend schneller als das Lungenextrakt. — Die günstige Wirkung der Injektion kann mehrere Tage anhalten. Bei Taube 2 ging es vom 1. I. bis 12. I. bei Reisfütterung ohne Injektion, bis die Beri-Beri-Symptome wieder auftraten.

Darmextrakt hatte lange nicht denselben Effekt wie die Präparate aus Lunge oder Leber. Es konnte die schweren Beri-Beri-Symptome nicht beseitigen.

Aus der Übersichtstabelle (Tab. 2) geht unzweideutig hervor, daß es gelingt, die Lebensdauer von Reistauben mit Leber- bzw. Lungenextrakt zu verlängern. Die günstige Wirkung ist aber keineswegs derart, daß die Tiere sehr lange mit Reiskost am Leben erhalten werden. Allerdings sind diese Extrakte für den Organismus keineswegs indifferente Stoffe. Wie aus dem Versuche 8 hervorgeht, kann eine normal gefütterte Taube mindestens 59 Tage jeden 2. Tag 1 ccm Leberextrakt vertragen. Eine

Tabelle 2. *Übersichtstabelle der Taubenversuche.*

Taube Nr.	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12
Fütterung. .	Reis	Reis	Reis	Reis	Reis	Reis	Norm.	Reis	Reis	Reis u. Citr.	Reis u. Citr.
Präparate . .	Leber	Lunge	Leber	Darm	Lunge	Leber	Leber				Leber
Anfangsgew. g	300	319	306	291	295	227	188	223	260	250	295
Endgew. . g	198	180	200	193	180	143	135	175	145	160	145
Lebensdauer: Tage:											
a) V. Beginn d. Fütterg. bis z. Beg. d. Injekt.	29	30	38	32	28	Injektion m. Beginn der Fütterung		Keine Injektion			Injekt. m. Beginn d. Fütt.
b) V. Injektionsbeg. b. z. Tode	17	25	11	6	10						
c) Gesamtd. v. Beg. d. Versuches b. z. Tode	46	55	49	38	38	10	59	15	38	30	55

so große Dosis haben unsere Tiere 1 bis 7 nicht erhalten. Waren die Beri-Beri-Symptome beseitigt, so warteten wir in der Regel, um eine neue Injektion zu machen, bis die Krankheitssymptome wieder erschienen. Wir konnten beim gleichen Tier wiederholt dieselben durch eine Injektion beseitigen. Schließlich aber hörte die Wirkung des Extraktes auf.

Wir möchten dieses Resultat dahin deuten, daß es eben nicht gelingt, mit Reis und Vitamin allein ein Tier längere Zeit am Leben zu erhalten.

Dem Einwande, daß die Tiere an der Extraktvergiftung zugrunde gingen, möchten wir erwidern, daß ein „Normaltier" und auch ein „Reistier" wenn es von Anfang der Reisfütterung an mit Extrakt behandelt wird, bedeutend länger und mehr Extrakt verträgt als die Tiere, welche erst bei Ausbruch der Beri-Beri die Injektionen bekamen.

Ferner sind die klinischen Symptome, unter welchen Tier 8 mit Normalfutter und Leberextrakt zugrunde ging, von den üblichen Beri-Beri-Symptomen leicht zu unterscheiden. Die Taube Nr. 8 hatte keinen Durchfall, keine Krämpfe, lag ruhig im Käfig ohne ausgesprochene Lähmungserscheinungen und starb ziemlich plötzlich. — Unsere Reistiere hatten beinahe alle Durchfall, z. T. Krämpfe, z. T. deutliche Lähmungserscheinungen.

Diese Versuche illustrieren die unmittelbare und mittelbare Wirkung unserer Präparate. Unmittelbar vermögen Leber- und Lungenextrakte

sehr prompt die Beri-Beri-Symptome zu beseitigen. Wird das Tier weiter mit Reis gefüttert, so kommt eine Zeit, wo diese unmittelbare Wirkung versagt, nach 10—25 Tagen seit Beginn der klinischen Symptome (Krämpfe, Lähmung). — Die ersten Injektionen steigern die Freßlust der Tiere.

Werden die Injektionen regelmäßig wiederholt, so kommt die mittelbare schädigende Wirkung zum Vorschein. Die Freßlust nimmt ab, die Tiere magern ab und gehen zugrunde.

Unsere Versuche lassen sich zur Lösung der Frage der Beri-Beri-Erkrankung heranziehen. Diese Krankheit wird noch als eine reine Avitaminose angesehen. *Gigon* hat schon darauf hingewiesen, daß diese Annahme nicht richtig sein könne, indem die einseitige Kohlehydratfütterung als pathogenetisches Agens eine Rolle mitspielen muß. Würde es sich um eine reine Avitaminose handeln, so müßte man erwarten, daß mit kontinuierlicher Injektion von Leberextrakt die Lebensdauer sich hätte wesentlich verlängern können. Dies ist nicht der Fall. Dabei scheint die giftige Wirkung der Extrakte nicht die Ursache des Mißlingens zu sein, sondern ziemlich sicher die einseitige Kohlehydratkost.

Die Versuche 11 und 12 zeigen, daß Skorbutvitamin, als Citronensaft verabreicht, nicht genügt, um das Tier zu retten, auch wenn Leberextrakt dazu injiziert wird.

III. Kaninchenversuche.

Unsere letzte Versuchsreihe betrifft Versuche an Kaninchen, bei denen wir konstant Wochen hindurch täglich subcutane Einspritzungen vornahmen. Die Tiere erhielten kein Grünfutter, sondern Kleie, Hafer und Mais im Verhältnis 1:1:2 (100 g Mais in 100 g Wasser aufgekocht) und zwar bis am 2. I. 1924. Vom 2. I. bis 6. I. 1924 wurde der Mais trocken gefüttert, wieder im Verhältnis 1:1:2. Die Tiere bekamen dazu täglich je 30 ccm Wasser. Diese Kost wurde von den Tieren nicht gerne gefressen, daher wurde vom 7. I. Mais wieder gekocht, 200 g in 400 ccm Wasser. Kaninchen A und B bekamen 150 g gekochten Mais und je 25 g Hafer und Kleie. Kaninchen D und E 100 g gekochten Mais und je 20 g Hafer und Kleie. Diese Fütterung wurde bis zum Schluß der Versuche beibehalten. Zur Prüfung der Veränderungen im Stoffwechsel wurde die tägliche Kost quantitativ gemessen, der Harn quantitativ aufgefangen und in demselben Stickstoff und Phosphor bestimmt. Zu diesem Zwecke wurde jedes Tier in einem besonderen Käfig gehalten. Alle Tage wurde das zurückgelassene Futter abgewogen und neues Futter gegeben. Jedem Tier wurde etwas Wasser dargereicht. Das Kaninchen 1 diente als Kontrolltier, es bekam keine Injektionen. Das Kaninchen 2 bekam Leberextrakt, Kaninchen 3 Lungenextrakt und Kaninchen 4 Darmextrakt jeden Tag subcutan unter die Rücken-

haut injiziert. Bis zum 4. I. 1924 betrug die tägliche Injektionsmenge bei jedem Tier 0,5 ccm, von da an 1,0 ccm des jeweiligen Präparates. Jeden zweiten Tag wurde das Gewicht der Tiere bestimmt, anfangs ebenfalls jeden zweiten Tag Stickstoffbestimmungen nach *Kjeldahl* im Gesamtharne der Tiere ausgeführt, von Mitte Januar an nur mehr zweimal in der Woche. Um die Tabelle nicht allzusehr auszudehnen, wurden die Resultate der Untersuchungen in kürzere Zeitabstände zusammengefaßt (siehe Tabellen 3 bis 6). Alle Tiere blieben bis zum

Tabelle 3. *Kontrollkaninchen.*

Zeit	Gewicht g	Genommene Nahrung g	N-Zufuhr g	Harn-N g	Harn P_2O_5 g
19. XII.—24. XII.	1590	1125	9,89	6,04	2,47
2. I.	1660	1015	8,92	3,74	2,89
6. I.	1620	265	4,17	1,52	0,53
11. I.	1620	415	3,41	4,24	0,75
16. I.	1540	350	2,89	3,15	0,41
21. I.	1450	245	2,03	2,38	0,41
25. I.	1400	110	—	—	—
28. I.	1340	40	0,33	1,57	0,24
31. I.	1300	160	1,50	1,16	0,30
6. II.	1400	355	2,94	1,78	0,31
11. II.	1380	250	2,09	1,78	0,42
15. II.	1320	140	1,16	1,51	0,50
20. II.	1270	140	1,16	1,80	0,42
26. II.	1300	450			
In 66 Tagen		4950	40,48	30,87	9,65
Pro Tag		75	0,61	0,46	0,145

Tabelle 4. *Kaninchen mit Leberextraktinjektion.*

Zeit	Gewicht g	Genommene Nahrung g	N-Zufuhr g	Harn-N g	Harn P_2O_5 g
5. XII.	3570				
16. XII.	3385	1575	13,89	13,56	2,53
24. XII.	3230	675	5,93	4,21	1,90
2. I.	3190	915	8,04	8,76	3,26
6. I.	3150	200	3,16	4,49	0,87
11. I.	2930	680	5,37	11,77	1,90
16. I.	2800	560	4,42	4,57	1,88
21. I.	2700	405	3,20	2,89	0,70
26. I.	2920	430	—	—	—
28. I.	2940	360	2,74	3,46	1,41
31. I.	2860	360	2,74	3,95	1,86
6. II.	2590	585	4,63	4,60	1,77
11. II.	2580	320	2,53	2,94	0,90
15. II.	2530	340	2,61	4,68	1,09
20. II.	2500	430	2,60	4,72	1,43
26. II.	2300	610	4,75	3,86	1,66
In 79 Tagen		8445	66,61	78,46	23,16
Pro Tag		107	0,84	0,99	0,29

Tabelle 5. *Kaninchen mit Lungenextraktinjektion.*

Zeit	Gewicht g	Nahrungszufuhr g	N-Zufuhr g	Harn-N g	Harn P_2O_5 g
5. XII.	2850				
16. XII.	2940	2245	19,72	8,74	1,64
24. XII.	2650	845	8,31	8,09	2,72
2. I.	2650	825	7,25	3,68	2,06
6. I.	2700	340	5,37	1,68	1,01
11. II.	2810	800	6,32	4,50	0,97
16. I.	2780	820	6,44	4,18	1,69
21. I.	2780	735	5,81	2,95	0,70
26. II.	2870	470	—	—	—
28. I.	2780	360	2,84	1,28	0,39
31. I.	2840	325	2,56	2,61	1,33
6. I.	2650	495	3,91	3,30	0,90
11. II.	2460	415	3,30	2,46	0,86
15. II.	2230	330	2,59	4,02	0,96
20. II.	2220	390	3,02	2,93	0,60
26. II.	2070	570	4,49	1,38	0,52
In 79 Tagen		9495	81,93	51,80	16,35
Pro Tag		117	1,02	0,65	0,21

Tabelle 6. *Kaninchen mit Darmextraktinjektionen.*

Zeit	Gewicht g	Nahrungszufuhr g	N-Zufuhr g	Harn-N g	Harn P_2O_5 g
19. XII.—24. XII.	1450	520	4,57	3,91	1,13
2. I.	1500	920	8,08	4,16	3,09
6. I.	1630	285	4,49	1,32	0,61
11. I.	1520	495	4,05	4,01	0,82
16. I.	1540	450	3,71	1,78	0,62
21. I.	1500	330	2,72	1,72	0,45
25. I.	1380	110	—	—	—
28. I.	1280	65	0,52	0,98	0,20
31. I.	1250	55	0,46	0,92	0,11
6. II.	1070	95	0,82	2,49	0,57
11. II.	1030				
15. II.	Exitus				
In 46 Tagen		3325	29,42	21,29	7,60
Pro Tag		72	0,64	0,46	0,165

Schlusse des Versuches, der über 3 Monate ausgedehnt wurde, am Leben mit Ausnahme des Kaninchens 4 (Darm), welches am 15. II. 1924 zugrunde ging. Kaninchen 2 ging am 5. III., und Kaninchen 3 am 26. II. zugrunde.

Aus den Tabellen möchten wir folgendes herauslesen. Zuerst geht aus dem Versuche am Kontrolltier hervor, daß Hafer, Kleie und Mais für das Kaninchen nicht das beste Nahrungsgemisch darstellen. Das Tier nimmt vom 2. I. bis 31. I. ständig ab, und bleibt allerdings von

diesem Zeitpunkt an in ungefährem Körpergleichgewicht bis zum Ende des Versuchs. Die Hafer-Mais-Kleie-Fütterung wurde noch bis Ende März durchgeführt; das Tier blieb ungefähr auf 1300 g. Es wurde dann für andere Versuche verwendet. Die N-Zufuhr ist pro die 0,15 g größer als der Harn-N. Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir annehmen, daß dieses Tier im N-Gleichgewicht gewesen ist. Der Überschuß der Zufuhr über den Harn-N dürfte dem Verlust mit dem Kot, den Haaren usw. entsprechen.

Das Tier, das Leberextrakt injiziert erhielt, weist eine fast ständige Gewichtsabnahme auf. Es ging am 5. III. zugrunde. Bis zu diesem Datum wurden die Injektionen von 1 ccm Extrakt ständig fortgesetzt, jedoch ohne Kontrolle des N-Umsatzes. Das Tier wog noch 895 g am 5. III. Der N-Umsatz weist ein starkes Defizit auf; dasselbe beginnt gleich mit der Injektionsbehandlung, und dauert bis zum Versuchsende. In 79 Tagen wurden mit dem Harn 11,85 g mehr N ausgeschieden als mit der Nahrung eingenommen wurde. Wir haben im N-Stoffwechsel nicht nur eine unmittelbare, sondern wohl auch eine mittelbare Wirkung der Injektionen. Interessant ist es, daß die Freßlust des Tieres bis zum Schlusse erhalten blieb.

Sehr auffallend ist die Wirkung des Lungenextraktes. Zwar weist das Versuchstier ebenfalls eine Gewichtsabnahme auf, die aber absolut und prozentuell hinter derjenigen des Leberextraktkaninchens zurückbleibt. Es scheint, als ob am Anfang die Lungenpräparatinjektionen die Freßlust des Tieres angeregt hätten. Sehr merkwürdig ist die sehr starke N-Retention, die ja bis zuletzt, wenn auch nicht in so erheblichem Maße weiter anhält. Gegenüber dem Lebertier weist das Lungenkaninchen die enorme Retention von 30,13 g N in 79 Tagen, oder 0,37 g pro die, d. h. 0,22 g N mehr pro Tag auf, als das Kontrollkaninchen. Das Tier hatte keine Diarrhöe, so daß eine ziemlich große N-Retention unter Injektionswirkung anzunehmen ist. Trotz dieser Retention und der erhalten gebliebenen Freßlust, trotz der relativ geringeren Gewichtsabnahme ging das Tier am 28. II. zugrunde, und starb somit früher als das Lebertier.

Der Antagonismus zwischen Leber und Lunge kommt in diesen Versuchen unerwarteterweise zum Ausdruck. *Gigon* und *Brauch* haben kürzlich nachgewiesen, daß dieser Antagonismus sich in den Veränderungen des Blut-p_H nach Extraktinjektion äußert. Lungenextrakt erzeugt eine Säuerung, Leberextrakt eine Alkalosis des Blutes.

Injektionen von Darmextrakt weisen keinen deutlichen Einfluß auf den N-Umsatz auf. In den ersten 4 Wochen der Behandlung behält das Tier seine Freßlust. Vom 25. I. an nimmt sie ab und der Tod erfolgt bedeutend früher als bei den andern Tieren, offenbar durch die Inanition beschleunigt.

Wie aus diesen Versuchen ersichtlich, wirken alle 3 verschiedenen Extrakte verschieden auf den Organismus. Allerdings in den gewählten Dosen entsteht immer eine Schädigung des Organismus, die aber mit ganz differenten Vorgängen einhergeht.

Die Versuche mit Leber- und Lungenpräparaten könnten als Beweis herangezogen werden zugunsten der Annahme, daß diesen Organen eine aktive Rolle im Gesamt- und im N-Stoffwechsel zukommt, und daß hier noch unbekannte Prozesse eine gewaltige Rolle spielen. Bisher hat man die Wirkung von derartigen Organextrakten hauptsächlich auf den Blutdruck und die Blutzusammensetzung geprüft und dabei keinerlei spezifische Wirkungen mit Sicherheit nachgewiesen. Unsere Ergebnisse sprechen dafür, daß wir spezifische Stoffwechselwirkungen erwarten können, und daß in dieser Richtung sich neue Wege eröffnen. Diese kleine Arbeit möge dafür einen kurzen Hinweis geben.

Schlußsätze.

1. Eiweißfreie Extrakte von Lunge, Darm und Leber wirken giftig auf die Maus. $^1/_2$—1 ccm dieser Extrakte töten eine Maus innerhalb 1—2 Stunden unter Krampfanfällen und Atembeschleunigung.

2. Leberextrakt und Lungenextrakt wirken bei Beri-Beri-Tauben prompt, indem sie die akuten Beri-Beri-Symptome für einige Tage beseitigen. Sie vermögen auf die Dauer die Reistaube nicht zu retten.

Eine normal gefütterte Taube, die alle 2 Tage 1 ccm Leberextrakt erhält, geht nach 59 Tagen zugrunde.

Darmextrakt hat keine deutliche Wirkung auf die Krankheitssymptome der Reistaube.

3. Leberextrakt, täglich injiziert, verursacht bei Kaninchen eine starke Gewichtsabnahme, N-Defizit und nach ca. 3 Monaten den Tod.

Lungenextrakt unter denselben Bedingungen erzeugt ebenfalls eine, wenn auch geringere Gewichtsabnahme, eine starke N-Retention und den Tod nach $2^1/_2$ Monaten. In beiden Fällen blieb die Freßlust bis zum Exitus ziemlich erhalten.

4. Darmextraktinjektionen verursachen beim Kaninchen ebenfalls eine Gewichtsabnahme; die Freßlust nimmt bald ab und der Tod tritt relativ früh unter Inanition ein. Der N-Umsatz wird vom Darmextrakt nicht beeinflußt.